Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2009;30(2):193-196
ISSN 1808-4532

Avaliação da atividade antimicrobiana das partes aéreas (folhas e caules) e raízes de *Richardia brasiliensis* Gomez (Rubiaceae)

Figueiredo, A.D.L.[1]; Bustamante, K.G.L.[1]; Soares, M.L.[1]; Pimenta, F.C. [2]; Bara, M.T.F. [3]; Fiuza, T.S.[1]; Tresvenzol, L.M.F.[3]; Paula, J.R.[3]*

[1]Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia, GO, Brasil.
[2]Departamento de Microbiologia, Instituto de Patologia Tropical, Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia, GO, Brasil.
[3]Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia, GO, Brasil.

Recebido 02/06/2009 / Aceito 24/09/2009

RESUMO

***Richardia brasiliensis* é uma planta utilizada popularmente como expectorante, emética, diaforética, vermífuga e para o tratamento de hemorróidas. O presente estudo objetivou realizar a prospecção fitoquímica e avaliar a ação antimicrobiana do extrato bruto das partes aéreas e raízes de *R. brasiliensis*. O extrato etanólico bruto foi obtido a partir do material botânico dessecado e pulverizado. O pó das partes aéreas e raízes foram submetidos à triagem fitoquímica. A atividade antimicrobiana foi realizada contra bactérias Gram-positivas esporuladas e não esporuladas, Gram-negativas e a levedura *Candida albicans* através da determinação da concentração inibitória mínima por diluição em ágar empregando-se o inoculador de Steers. A triagem fitoquímica evidenciou a presença de esteróides, triterpenóides, cumarinas, resinas, alcalóides e flavonóides. A CIM do extrato das partes aéreas variou de 0,37 a 0,74 mg/mL e das raízes de 0,74 a 11,9 mg/mL. Concluiu-se que tanto o extrato etanólico bruto das partes aéreas quanto das raízes apresentaram atividade antimicrobiana.**

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. CIM. Plantas medicinais.

INTRODUÇÃO

A *Richardia brasiliensis* Gomez, pertence à família Rubiaceae e é conhecida popularmente como poaia-branca, poaia-do-campo ou poaia. É uma erva-daninha nativa da América do Sul, sendo encontrada desde a Cordilheira dos Andes até a Costa Atlântica. No Brasil, tem vasta distribuição geográfica, com maior ocorrência em regiões agrícolas do Centro-Oeste, Sudeste e Sul. Essa planta é mais comum nos solos com boa umidade, mas não encharcados. Seu desenvolvimento é estimulado em locais bem iluminados e com vegetação menos densa (Lorenzi, 1991).

A *R. brasiliensis* é uma planta anual, herbácea, prostada, ramificada, de caule densamente hirsuto-pubescente, medindo 30-70 cm de comprimento (Lorenzi, 2000). As folhas são simples e opostas. O limbo foliar, de coloração verde-escura, apresenta forma ovada ou lanceolada, com tênue pilosidade na face ventral e sobre as nervuras na face dorsal. O pecíolo é curto ou quase ausente (Rosseto et al., 1997). Observa-se a presença de estípulas interpeciolares. As flores são brancas e se reúnem em inflorescências glomerulares achatadas, terminais, protegidas por um invólucro de 2-6 brácteas. O fruto é uma cápsula oboval-trígona, com 2-4 mm de comprimento (Lorenzi, 1991).

Além da importância econômica relacionada às culturas agrícolas, a *R. brasiliensis* é utilizada popularmente, através de infuso ou decocto da raiz, como expectorante, emética, diaforética (Grandi et al., 1989), vermífuga e para o tratamento de hemorróidas (Agra et al., 2007).

Estudos fitoquímicos realizados por Pinto et al. (2008) revelaram a presença de isorametina-3-*O*-rutinosídeo, ácido oleanólico, da cumarina escopoletina e dos ácidos *p*-hidroxibenzóico e *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzóico.

Devido à ausência de relatos da atividade antimicrobiana da *R. brasiliensis*, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das partes aéreas (folhas e caules) e raízes de *R. brasiliensis* através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e verificar as principais classes de metabólicos secundários presentes nas partes aéreas e subterrâneas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Plantas adultas de *Richardia brasiliensis* Gomez foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da

Autor correspondente: José Realino de Paula - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Goiás - UFG - CP 131 CEP.74001-970 – Goiânia - GO - Brasil - Telefone: (62) 3209 6044 - Fax: (62) 3209 6037
e-mail: pjrpaula@gmail.com

Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG), Campus I, em Goiânia, Goiás (16º40`33,3" Sul e 49¨14`39,5" Oeste, a 768m de altitude). O material botânico foi identificado pelo Professor Doutor José Realino de Paula da Universidade Federal de Goiás, e a exsicata depositada no herbário dessa instituição sob registro UFG -27.226.

O material vegetal foi divido em partes aérea (folhas e caules) e subterrânea (raízes), lavado em água corrente, dessecado em estufa com circulação de ar a 40ºC e moído em um moinho de facas.

Prospecção fitoquímica

A amostra pulverizada das partes aéreas e das raízes de *R. brasiliensis* foi submetida à triagem fitoquímica, sendo realizadas pesquisas de heterosídeos antraquinônicos, esteróides e triterpenóides, flavonóides, saponinas, taninos, alcalóides, cumarinas e resinas, segundo metodologias adaptadas de Costa (2001) e Matos (1988). Todos os testes foram realizados em triplicata.

Preparação do extrato etanólico bruto

O material pulverizado, constituído pelas partes aéreas e raízes, foi extraído por maceração em etanol a 95% (v/v), na proporção de 1:5 (p/v) à temperatura ambiente, com agitação ocasional por 72h, seguido por filtração. O extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador à temperatura de 40ºC e o resíduo vegetal extraído por mais duas vezes de maneira análoga, obtendo assim o extrato etanólico bruto (Ferri, 1996).

Avaliação da atividade antimicrobiana

Microrganismos

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos brutos das partes aéreas e raízes de *R. brasiliensis*, foram utilizados microrganismos padrão e isolados clínicos cedidos pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP)/UFG. Os microrganismos utilizados foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29737, *S. aureus* FFRP- USP, *S. aureus* FFRP- USP, *Rhodococcus equi* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Micrococcus roseus* IPTSP/UFG, *Clostridium sporogenes* ATCC 11437, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* ATCC 007, *B. subtilis* ATCC 6633, *Bacillus stearothermophylus* ATCC1262, *Escherichia coli* ATCC 8739, *E. coli* ATCC 11229, *E. coli* ATCC 25922, *Agrobacterium tumefaciens* ATCC 333970/ C58, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Salmonella typhymurium* ATCC 14028, *Salmonella* sp. IPTSP/UFG, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterobacter cloacae* FT 502 LEMC/EPM/UFP, *E. cloacae* FT 505 LEMC/EPM/ UFP, *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Candida albicans* ATCC 10231. A triagem da atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada conforme recomendado pelo NCCLS (NCCLS, 2003).

Os microrganismos foram repicados em ágar Müeller Hinton e incubados a 37°C por 24 h antes do experimento. Para o preparo do inóculo, as culturas de cada microrganismo foram transferidas para tubos de ensaio contendo 2 mL de salina estéril até obtenção de uma turbidez equivalente a metade da escala 1,0 de MacFarland.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para a determinação da CIM, 476 mg dos extratos etanólicos brutos das partes aéreas e das raízes foram pesados em tubos de ensaio esterilizados, solubilizados em 2 mL de etanol a 95% e submetidos à diluição seriada 1:2. Em seguida, adicionou-se 19,0 mL de ágar Müeller Hinton liquefeito a 50ºC aos tubos, homogeneizou-se e verteu-se rapidamente em placas de Petri esterilizadas. Após as diluições as concentrações dos extratos brutos variaram de 11,9 mg/mL a 0,37 mg/mL. Preparou-se, nas mesmas condições, placa controle contendo 1mL de etanol a 95%. Fez-se o teste de esterilidade incubando todas as placas em uma estufa à 37ºC por 24 horas.

Os inóculos microbianos foram transferidos para o inoculador de Steers (Steers et al., 1959) e aplicados nas placas de ágar Müeller Hinton contendo as diferentes concentrações dos extratos brutos das partes aéreas e das raízes. As placas foram incubadas a 37ºC por 24 horas. Foi considerada CIM a menor concentração dos extratos que inibiu o desenvolvimento microbiano. Os ensaios foram realizados em quadruplicatas.

RESULTADOS

Prospecção fitoquímica

Na prospecção fitoquímica da parte aérea verificou-se a presença de alcalóides, flavonóides, esteróides, triterpenóides, cumarinas e resina, enquanto nas raízes foram detectados esteróides, triterpenóides, cumarinas e resinas.

Avaliação antimicrobiana

O extrato etanólico bruto das partes aéreas de *R. brasiliensis* apresentou melhor atividade antimicrobiana que o extrato etanólico bruto das raízes (Tabela 1). A CIM do extrato etanólico bruto das partes aéreas foi de 0,37 mg/mL para oito bactérias Gram-positivas (*S. aureus* ATCC 29737, *S. aureus* FFRP- USP, *S. aureus* FFRP- USP, *Rhodococcus equi* ATCC 25923, *M. luteus* ATCC 9341, *M. roseus* IPTSP/ UFG, *C. sporogenes* ATCC 11437, *B. cereus* ATCC 14579) e sete bactérias Gram-negativas (*E. coli* ATCC 25922, *S. choleraesuis* ATCC 10708, *S. typhymurium* ATCC 14028, *Salmonella* sp. IPTSP/UFG, *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. cloacae* FT 505 LEMC/EPM/UFP, *S. marcescens* ATCC 14756) e de 0,74 mg/mL para quatro bactérias Gram-positivas, três bactérias Gram-negativas e para a levedura *C. albicans* ATCC 10231 (Tabela 1).

A CIM do extrato etanólico bruto das raízes foi de 11,9 mg/mL para as bactérias Gram-positivas não esporuladas, com exceção do *M. luteus* (CIM de 0,74 mg/ mL) e do *M. roseus* (CIM de 1,48 mg/mL) e variou de 0,74 mg/mL a 5,95 mg/mL para as bactérias Gram-positivas

esporuladas. Para as bactérias Gram-negativas e para a levedura *C. albicans* a CIM foi de 0,74 mg/mL, exceto para *E cloacae* FT 502 LEMC/EPM/UFP (CIM de 1,48 mg/mL) e da *E. cloacae* FT 505 LEMC/EPM/UFP (CIM de 11,9 mg/mL) (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração inibitória mínima do extrato etanólico bruto das partes aéreas e raízes de *Richardia brasiliensis* Gomez (Rubiaceae) frente à diferentes microrganismos.

Microrganismos	CIM (mg/mL)	
	Partes Aéreas	Raiz
Bactérias Gram-positivas		
Staphylococcus aureus ATCC 25923	0,37	11,9
Staphylococcus aureus ATCC 29737	0,74	11,9
Staphylococcus aureus FFRP- USP	0,37	11,9
Staphylococcus aureus FFRP- USP	0,37	11,9
Rhodococcus equi ATCC 25923	0,37	11,9
Micrococcus luteus ATCC 9341	0,37	0,74
Micrococcus roseus IPTSP/UFG	0,37	1,48
Bactérias Gram-positivas esporuladas		
Clostridium sporogenes ATCC 11437	0,37	1,48
Bacillus cereus ATCC 14579	0,37	1,48
Bacillus subtilis ATCC 007	0,74	0,74
Bacillus subtilis ATCC 6633	0,74	5,95
Bacillus stearothermophylus ATCC1262	0,74	0,74
Bactérias Gram-negativas		
Escherichia coli ATCC 8739	0,74	0,74
Escherichia col ATCC 11229	0,74	0,74
Escherichia col ATCC 25922	0,37	0,74
Agrobacterium tumefaciens ATCC 333970/C58	0,74	0,74
Salmonella choleraesuis ATCC 10708	0,37	0,74
Salmonella typhymurium ATCC 14028	0,37	0,74
Salmonella sp. IPTSP/UFG	0,37	0,74
Enterobacter aerogenes ATCC 13048	0,37	0,74
Enterobacter cloacae FT 502 LEMC/EPM/UFP	0,74	1,48
Enterobacter cloacae FT 505 LEMC/EPM/UFP	0,37	11,9
Serratia marcescens ATCC 14756	0,37	0,74
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	0,74	0,74
Fungo		
Candida albicans ATCC 10231	0,74	0,74

ATCC : *American Type Culture Colection*; **FFRP- USP**: Isolado clínico da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo; **IPTSP/UFG**: Isolado clínico do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/Universidade Federal de Goiás; **LEMC-EPM/UFP**: Isolado clínico do Laboratório Especial de Microbiologia Clínica/Escola paulista de Medicina

DISCUSSÃO

Na prospecção fitoquímica da parte aérea da *R. brasiliensis* verificou-se a presença de alcalóides, flavonóides, esteróides, triterpenóides, cumarinas e resina, enquanto nas raízes foram detectados esteróides, triterpenóides, cumarinas e resinas. Alcalóides foram encontrados em diversas espécies medicinais de Rubiaceae, como em *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Richard, *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C., *Pausinystalia yohimbe* (K. Scumann) Pierre (Alonso, 1998), *Cinchona* spp. Null (Alves et al., 2004), *Cinchona ledgeriana* Moens Alonso, (1998), *Sarcocephalus coadunatus* (Sm.) Druce (Khan & Omoloso, 2003), *Mitragyna Inermis* (Willd.) O. Kuntze (Konkon et al., 2008). De acordo com Simões et al. (2004) os terpenóides (triterpenos, diterpenos) são constituintes químicos comuns na família Rubiaceae. Alonso (1998) relatou a presença desses compostos entre os constituintes químicos da *Uncaria tomentosa* (Will ex Schult) DC (unha de gato).

No presente estudo tanto o extrato etanólico bruto das partes aéreas quanto das raízes apresentaram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas esporuladas e não esporuladas, Gram-negativas e contra a levedura *C. albicans*. Atividades antimicrobianas também foram observadas em outras espécies da família Rubiaceae. Khan et al. (2001) verificaram que os extratos metanólicos das folhas e das raízes de *Psychotria microlabrasta* L. (Sphalm) apresentaram amplo espectro de atividade antimicrobiana. Rajakaruma et al. (2002) detectaram atividade antimicrobiana de *Canthium* sp. Lam. contra *S. aureus, B. subtilis* e *Mycobacter phlei*; de *Catunaregam spinosa* (Thumb.) D.D. Tirvengadum contra *S. aureus, B. subtilis, E. faecalis* e *M. phlei*; de *Morinda tinctoria Roxb.* contra *B. subtilis*; e de *Tarenna asiatica* (L.) Alston contra *M. phlei.* Linhagens isoladas de *Palicourea longiflora* (Aubl.) A. Rich., apresentaram atividade antimicrobiana contra *Bacillus sp., B. subtilis, Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Souza et al., 2004). Extratos diclorometano e metanol das folhas de *Gonzalagunia rosea* Standl apresentaram atividade moderada contra *C. albicans* (CIM de 1,25 mg/mL a 2,5 mg/mL) e forte contra *Fusarium solani* (CIM de 0,31 mg/mL a 1,25 mg/mL) (Niño et al., 2006).

A atividade antimicrobiana da *R. brasiliensis* encontrada no presente estudo pode estar relacionada com a presença de flavonóides e terpenos em sua composição química, pois há relatos na literatura que descrevem atividades antimicrobianas dessas classes de compostos (Gutkind et al., 1984; Perruchon, 2002; Singh & Singh, 2003; Simões et al., 2004; Weniger et al., 2005).

Concluiu-se que tanto o extrato etanólico bruto das partes aéreas de *R. brasiliensis* quanto de suas raízes apresentaram atividade antimicrobiana e que as principais classes de metabólicos secundários presentes nas partes aéreas foram alcalóides, flavonóides, esteróides, triterpenóides, cumarinas e resina e nas partes subterrâneas foram esteróides, triterpenóides, cumarinas e resinas. Esse estudo representou a primeira descrição da atividade antimicrobiana da *R. brasiliensis*.

ABSTRACT

Assessment of antimicrobial activity of aerial parts (leaves and stems) and roots of Richardia brasiliensis Gomez (Rubiaceae)

***Richardia brasiliensis* is a neotropical perennial herb used in Brazilian popular medicine as an expectorant, emetic, diaphoretic, vermifuge and to treat hemorrhoids. This paper reports the phytochemical screening and the antimicrobial activity of crude ethanol extracts of the aerial parts and roots of this plant. The crude ethanol extracts were prepared from dried, pulverized botanical material. The aerial parts and roots powder was screened for classes of phytochemicals. The antimicrobial activity was tested against spore-forming and non-sporing Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and *Candida albicans* by the agar dilution method, inoculating the series of plates at multiple points with a "Steers replicator" to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of each organism. The phytochemical screening showed the presence of steroids, triterpenes, coumarins, resins, alkaloids and flavonoids. The MIC of the extract of aerial parts varied from 0.37 to 0.74 mg/mL and that of the roots from 0.74 to 11.9 mg/mL. It was concluded**

that the crude ethanolic extracts of both the aerial parts and the roots showed antimicrobial activity.
Keywords: Antimicrobial activity. Medicinal plants. MIC.

REFERÊNCIAS

Agra MF, Freitas PF, Barbosa-Filho JM. Sinopse das plantas conhecidas como medicinais e venenosas no Nordeste do Brasil. Rev Bras Farmacogn. 2007; 17:114-40.

Alonso JR. Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Isis Ediciones S.R.L.; 1998. p.808-10.

Alves RMS, Stehmann JR, Isaias RMS, Brandão MGL. Caracterização botânica e química de *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth., (Rubiaceae). Rev Bras Farmacogn. 2004; 14(1):49-56.

Costa AF. Farmacognosia. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2001.

Ferri PH. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: Di Stasi LC. Plantas medicinais: arte e ciência. São Paulo: Editora da Unesp; 1996. p. 129-56.

Grandi TSM, Trindade JA, Pinto MJF, Ferreira LL, Catella AC. Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil. Acta Bot Bras. 1989; 3(2):185-224.

Gutkind G, Norbedo C, Mollerach M, Ferrado G, de Torres R. Antibacterial activity of *Achyrocline flaccida*. J Ethnopharmacol. 1984; 10:319-21.

Khan MR, Omoloso AD. Antimicrobial activity of extractives of *Sarcocephalus coadunatus*. Fitoterapia 2003; 74:695-8.

Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. Antimicrobial activity of *Bidens pilosa, Bischofia javanica, Elmerillia papuana* and *Sigesbekia orientalis*. Fitoterapia 2001; 72:662-5.

Konkon NG, Adjoungoua AL, Manda P, Simaga D, Guessan KEN, Kone B Toxicological and phytochemical screening study of *Mitragyna Inermis* (willd.) O ktze (Rubiaceae), antidiabetic plant. J Med Plant Res. 2008; 2(10):279-84.

Lorenzi, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum; 1991. 440 p.

Lorenzi, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum; 2000. p. 538.

Matos FJA. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza: Edições UFC; 1988. 246p.

NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 6th.ed. NCCLS document M7-A6. NCCLS, Wayne, PA; 2003. p.1-47.

Niño J, Narváez DM, Mosquera OM, Correa YM. Atividades antibactariana, antifúngica e citotóxica de oito plantas Asteraceae e duas Rubiaceae da biodiversidade colombiana. Braz J Microbiol. 2006; 37(4):566-70.

Perruchon S. Estudo das propriedades dos flavonóides para cosméticos através do relacionamento função-estrutura. Cosmet Toilet. 2002; 14(6):74.

Pinto ACT, Tavares JF, Tenório-Souza FH, Dias CS, Braz-Filho R, Cunha EVL. Metabólitos secundários isolados de *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). Rev Bras Farmacogn. 2008; 18(3):367-72.

Rajakaruna N, Harris CS, Towers GHN. Antimicrobial Activity of Plants Collected from Serpentine Outcrops in Sri Lanka. Pharm Biol. 2002; 40(3):235-44.

Rosseto RR, Pitelli RLCM, Pitelli RA. Estimativa da área foliar de plantas daninhas: poaia-branca. Planta Daninha 1997; 15(1):25-9.

Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia*: da planta ao medicamento. 5. ed. Florianópolis: Editora da UFSC; 2004. p.615-56.

Singh B, Singh S. Anticrobial activity of terpenoids from *Trichodesma amplexicaule* Roth. Phytother Res. 2003 Aug; 17(7):814-6.

Souza AQL, Souza ADL, Astolfi Filho S, Belém Pinheiro ML, Sarquis MIM, Pereira JO. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. Acta Amaz. 2004; 34(2):185-95.

Steers E, Foltz EL, Graves BS. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. Antibiot Chemother. 1959; 9:307-11.

Weniger B, Lobstein A, Um B, Vonthoron-Sénéchau C, Anton R, Usuga NJ, Baram H, Lugnier C. Bioactive triterpenoids from *Vochysia pacifica* interact with cyclic nucleotide phosphodiesterase isozyme PDE4. Phytother Res. 2005; 19:75-7.